

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 07-196526

(43)Date of publication of application : 01.08.1995

(51)Int.Cl.

A61K 35/78

A61K 35/78

A61K 7/00

A61K 7/48

A61K 7/50

(21)Application number : 06-001039

(71)Applicant : TAKANO CO LTD

(22)Date of filing : 11.01.1994

(72)Inventor : KAWAKAMI AKIRA

## (54) INHIBITOR OF COLLAGENASE

## (57)Abstract:

PURPOSE: To obtain an inhibitor of collagen available from a natural product capable of directly sticking to the sensitive skin.

CONSTITUTION: This inhibitor of collagen contains a plant dried powder obtained from at least one raw material plant selected from a fruit of *Punica granatum* L., a fruit and leaf of lemon balm, a leaf of *Geranium thunbergii* Sieb. et Zucc., a leaf of *Agrimonia eupatoria* L., a leaf of oregano (a plant of the genus *Origanum*), a leaf of *Prunella vulgaris* L., a flower and a leaf of *Veronicastrum sibiricum* Pennell, a fruit of *Parabenzoin praecox* Nakai, a flower of *Rosa multiflora* Thunb., a flower of *Smilax china* L., a leaf of *Castanea crenata* Sieb. et Zucc., a flower of *Oenothera odorata* Jacq. and a leaf of *Senecioisorbis occidentalis* L. An extract solution prepared by extracting the plant dried powder with water contains an inhibiting ingredient of collagenase capable of inhibiting the activity of collagenase which is a decomposing enzyme of the collagen.

1/1 P.1/2

## LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 10.01.2001

[Date of sending the examiner's decision of rejection] 04.04.2006

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

【発行国】

日本国特許庁（J P）

【公報種別】 (19)日本国特許庁（J P）

(12) 公開特許公報（A）

(11)特許出願公開番号

特開平7-196526

(43)公開日 平成7年(1995)8月1日

公開特許公報（A）

(51)Int.Cl.<sup>a</sup>  
A 6 1 K 35/78

識別記号 庁内整理番号  
A E D W 8217-4C  
A D A Y 8217-4C

F I

技術表示箇所

【公開番号】 7/00

K  
W

7/48

特開平7-196526

審査請求 未請求 請求項の数3 O L（全5頁）最終頁に続く

(21)出願番号 特願平6-1039

(71)出願人 000108627

タカノ株式会社

長野県上伊那郡宮田村137番地

(72)発明者 川上 晃

長野県上伊那郡宮田村137 タカノ株式会

社内

(74)代理人 弁理士 綿貫 隆夫（外1名）

【公開日】 (22)出願日 平成6年(1994)1月11日

平成7年（1995）8月1日

【発明の名称】

コラゲナーゼ阻害剤

(54)【発明の名称】 コラゲナーゼ阻害剤

【国際特許分類第6版】

(57)【要約】

【目的】 敏感な皮膚に直接付着し得る天然物から得ら

A61K 35/78のルコラゲナーゼ阻害剤を提供する。

【構成】 ザクロ実、レモンバーム実及び葉、ゲンノシ  
ョウコ葉、キンミズヒキ葉、オレガノ葉、ウツボグサ  
葉、トラノヲ花及び葉、アブラチャン実、ノイバラ花、

7/00サルトリイバラ花、クリ葉、マツヨイ草花、及びワレモ  
コウ葉から成る植物群から選ばれた少なくとも一種の原  
料植物から得られた植物乾燥粉末であって、該植物乾燥

粉末を水抽出して得られた抽出液中に、コラーゲンの分  
7/48解酵素であるコラゲナーゼの活性を阻害するコラゲナー  
ゼ阻害成分が含有されていることを特徴とする。

7/50

【審査請求】未請求

【請求項の数】3

【出願形態】O L

【全頁数】5

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 ザクロ実、レモンバーム実及び葉、ゲンショウコ葉、キンミズヒキ葉、オレガノ葉、ウツボグサ葉、トラノヲ花及び葉、アブラチャン実、ノイバラ花、サルトリイバラ花、クリ葉、マツヨイ草花、及びワレモコウ葉から成る植物群から選ばれた少なくとも一種の原料植物から得られた植物乾燥粉末であって、該植物乾燥粉末を水抽出して得られた抽出液中に、コラーゲンの分解酵素であるコラーゲナーゼの活性を阻害するコラーゲナーゼ阻害成分が含有されていることを特徴とするコラーゲナーゼ阻害剤。

【請求項2】 植物乾燥粉末100gから水又は温水200リットルによって抽出して得られた水抽出液のコラーゲナーゼ阻害率が10%以上である請求項1記載のコラーゲナーゼ阻害剤。

【請求項3】 植物乾燥粉末が、原料植物を凍結乾燥した後に粉碎して得られた植物乾燥粉末である請求項1記載のコラーゲナーゼ阻害剤。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】本発明はコラーゲナーゼ阻害剤に関し、更に詳細にはコラーゲンの分解酵素であるコラーゲナーゼの活性を阻害するコラーゲナーゼ阻害成分が含有されているコラーゲナーゼ阻害剤に関する。

## 【0002】

【従来の技術】人間の皮膚や関節を取り巻く筋肉は、コラーゲンなるタンパク質とエラスチンなるタンパク質との網目構造によって、その形状等が保持されている。このため、紫外線の照射や自己消化によってコラーゲンが分解され、コラーゲン繊維を再生するに充分なコラーゲンが補充されなかったとき、皮膚の弛みやシワの原因となる。また、リウマチ性関節炎は、免疫代謝異常による自己消化によって、関節のコラーゲン繊維が分解されるために起こるとされている。ところで、コラーゲンの消失は、体内に存在するコラーゲンの分解酵素であるコラーゲナーゼによってもなされる。従って、選択的に皮膚真皮や目的部位に、コラーゲナーゼの活性を阻害することができれば、皮膚の弛みやシワの進行、或いはリウマチ症状の進行の遅延を期待できる。かかる観点からコラーゲナーゼの阻害剤について、化粧品素材や医薬品材料として研究されている。

## 【0003】

【発明が解決しようとする課題】この様に、コラーゲナーゼ阻害剤が配合された化粧品等によれば、コラーゲンの不足に因る皮膚の弛みやシワの防止、皮膚の張り等の維持を期待し得る。しかしながら、現在研究されている殆どのコラーゲナーゼ阻害剤が合成品であるため、敏感な皮膚に直接付着する化粧品等に合成品のコラーゲナーゼ阻害剤を配合することには問題がある。そこで、本発明の目的は、敏感な皮膚に直接付着し得る天然物から得られ、コ

ラーゲナーゼ阻害成分を含有するコラーゲナーゼ阻害剤を提供することにある。

## 【0004】

【課題を解決するための手段】本発明者は、前記目的を達成すべく種々の植物を使用して抽出した抽出液のコラーゲナーゼ阻害率を調査した結果、ザクロ実、レモンバーム葉等の特定の植物を凍結乾燥し粉碎した植物粉砕物を水抽出して得られた水抽出物は、コラーゲナーゼ阻害率が高いことを見出し、本発明に到達した。

【0005】即ち、本発明は、ザクロ実、レモンバーム実及び葉、ゲンショウコ葉、キンミズヒキ葉、オレガノ葉、ウツボグサ葉、トラノヲ花及び葉、アブラチャン実、ノイバラ花、サルトリイバラ花、クリ葉、マツヨイ草花、及びワレモコウ葉から成る植物群から選ばれた少なくとも一種の原料植物から得られた植物乾燥粉末であって、該植物乾燥粉末を水抽出して得られた抽出液中に、コラーゲンの分解酵素であるコラーゲナーゼの活性を阻害するコラーゲナーゼ阻害成分が含有されていることを特徴とするコラーゲナーゼ阻害剤にある。かかる構成を有する本発明において、植物乾燥粉末100gから水又は温水200リットルによって抽出して得られた水抽出液のコラーゲナーゼ阻害率が10%以上であるとき、コラーゲナーゼ阻害能を有する入溶剤として、当該植物乾燥粉末を使用することができる。また、植物乾燥粉末が、原料植物を凍結乾燥した後に粉碎して得られた植物乾燥粉末であることによって、乾燥途中のコラーゲナーゼ阻害成分の損失を可及的に少なくできる。

## 【0006】

【作用】本発明によれば、コラーゲナーゼ阻害率の高い抽出液を得ることができ、しかもかかる抽出液に含有されているコラーゲナーゼ阻害成分は、天然物である植物から抽出されたものであるため、合成品ではない。このため、本発明によって得られた抽出液は、直接皮膚に付けることができ、化粧品や入溶剤として使用できる。

## 【0007】

【発明の概要】本発明では、ザクロ実、レモンバーム実及び葉、ゲンショウコ葉、キンミズヒキ葉、オレガノ葉、ウツボグサ葉、トラノヲ花及び葉、アブラチャン実、ノイバラ花、サルトリイバラ花、クリ葉、マツヨイ草花、及びワレモコウ葉から成る植物群から選ばれた少なくとも一種を原料として使用することが大切である。前記植物群において、ザクロ実、レモンバーム葉、ゲンショウコ葉、キンミズヒキ葉、アブラチャン実、オレガノ葉、及びウツボグサ葉から成る植物群から得られればれた少なくとも一種を原料として使用することが、コラーゲナーゼ阻害成分を充分に含有する抽出液を得ることができ好ましい。就中、ザクロ実及び／又はレモンバーム葉を原料として使用することが、入溶剤等に使用した場合、香り及び使用量等の観点から好ましい。一方、前記植物群以外の植物を原料として使用した場合、コラーゲ

一ゼ阻害成分を充分に含有する抽出液を得るためには、大量の原料植物を必要とする。

【0008】また、本発明では、原料植物を乾燥して得られた植物乾燥粉末を、水又は温水によって抽出する。この乾燥操作としては、凍結乾燥を採用することが好ましい。乾燥途中において、原料植物中に存在するコラゲナーゼ阻害成分の損失を可及的に少なくできるためである。ここで、原料植物を乾燥することなく水又は温水抽出しても、コラゲナーゼ阻害成分の抽出は可能である。しかし、抽出液中のコラゲナーゼ阻害成分を所定量以上とするには、大量の原料植物を必要とし、抽出作業を煩雑なものとする。尚、本発明において言う「温水抽出」とは、温度が35～45℃程度の温水を使用して行う抽出をいう。

【0009】本発明においては、植物乾燥粉末100gから水又は温水200リットルによって抽出して得られた水抽出液のコラゲナーゼ阻害率が10%以上であることが、植物乾燥粉末を入溶剤として好適に使用できる。また、植物乾燥粉末を水抽出して得られた抽出液を、必要に応じて固液分離した分離液を濃縮した濃縮液又は固形物にしてもよい。この濃縮液又は固形物を入溶剤として使用する場合には、必要に応じて水や温水に再溶解して使用することができる。かかる濃縮液又は固形物は、2～20g、好ましくは5gを、水又は温水200リットル中に添加した際に、200リットルの水又は温水におけるコラゲナーゼ阻害率が10%以上となるように、コラゲナーゼ阻害成分の濃縮度を調整することが好ましい。

【0010】以上、述べてきた本発明において言う「コラゲナーゼ阻害率」は、下記の方法で測定したものである。本発明でのコラゲナーゼ阻害率は、Wunsch等のコラゲナーゼ阻害活性試験方法[E. Wunsch et al., Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., 333, 149～151 (1963)]に基づいて測定した。つまり、合成基質(4-Phenylazobenzoyloxycarbonyl-Pro-Leu-Gly-Pro-Arg)を、Clostridium histolyticum由来のコラエナーゼによって分解し、合成基質の分解率を測定した。この測定は、本発明において得られた植物乾燥粉末から水抽出された抽出液に合成基質を

加えた被試験溶液に、コラエナーゼを加え、37℃で15分間保持した後、コラエナーゼを酸性化失活させた。次いで、コラエナーゼの作用で生じた分解物(4-Phenylazobenzoyloxycarbonyl-Pro-Leu)を酢酸エチルによって抽出し、抽出液の320nmにおける吸光度(A1)を測定した。更に、合成基質に蒸留水のみを加えた合成基質溶液についても、A1の測定と同様にして吸光度(B1)を測定した。

【0011】また、被試験溶液に酸性化失活させたコラエナーゼを加えた他は、A1と同様にして吸光度(A2)を測定すると共に、合成基質溶液についても、A2と同様にして吸光度(B2)を測定した。測定した吸光度(A1、A2、B1、B2)を用い、下記式によってコラゲナーゼ阻害率(C)を算出した。

$$C(\%) = \{ (B1 - B2) - (A1 - A2) \} / (A1 - A2) \times 100$$

上記式において、コラエナーゼの活性が阻害されない場合には、コラゲナーゼ阻害率(C)は0%となり、コラエナーゼの活性が完全に阻害された場合には、コラゲナーゼ阻害率(C)は100%となる。

【0012】

【実施例】

実施例1

採取した種々の植物片を冷凍した後、24時間の真空乾燥を施し、水分含有率0.1%未満の乾燥物とした。その後、この乾燥物を1mm以下の粉末に粉砕してから冷凍保存した。次いで、冷凍保存した粉末の0.5gを採取し、蒸留水40ccを加えて15分間の攪拌抽出(2000rpm、25℃)を行った。更に、攪拌抽出が終了した後、遠心分離機によって遠心分離(12000rpm、15分間)を行い、上澄液を被測定原液とした。また、被測定原液を5倍に希釈した5倍希釈液、10倍に希釈した10倍希釈液も、被測定原液とした。この様に得られた被測定原液、5倍希釈液、及び10倍希釈液の各々について、上述した測定方法によってコラゲナーゼ阻害率(C)を測定し、下記表1に示した。

【0013】

表1

サンプル名		コラゲナーゼ阻害率(C) [単位: %]		
		被測定原液	5倍希釈液	10倍希釈液
ザクロ	実	100	76	39
レモンバーム	葉	80	55	38
ゲンノショウコ	葉	100	95	32
キンミズヒキ	葉	96	74	24
アブラチャン	実	100	49	24
ノイバラ	花	97	50	23
オレガノ	葉	91	53	10
ウツボグサ	葉	100	82	10
トラノヲ	花葉	100	59	9

クリ	葉	94	52	8
マツヨイ草	花	91	54	7
ワレモコウ	葉	86	54	7
サルトリイバラ花		100	58	6
レモンバーム	実	100	51	6
ハッカ	葉	63	58	-3
タイム	葉	76	58	-11

【0014】表1から明らかな様に、ザクロ実、レモンバーム実及び葉、ゲンノショウコ葉、キンミズヒキ葉、オレガノ葉、ウツボグサ葉、トラノヲ花及び葉、アブラチャン実、ノイバラ花、サルトリイバラ花、クリ葉、マツヨイ草花、又はワレモコウ葉、特にザクロ実、レモンバーム葉、ゲンノショウコ葉、キンミズヒキ葉、オレガノ葉、アブラチャン実、又はウツボグサ葉を原料植物として使用して得られた抽出液においては、被測定原液、5倍希釈液、及び10倍希釈液において良好なコラゲナーゼ阻害率を示した。

#### 【0015】実施例2

実施例1において得られた植物粉末を温水200リットルに添加・抽出して得られた抽出液中のコラゲナーゼ阻害率を測定し、コラゲナーゼ阻害率が10%以上とするに必要な植物粉末量を測定した。その結果を下記の表2に示す。

表2

サンプル名	必要な粉末量 (g)
ザクロ 実	19
レモンバーム 葉	14
ゲンノショウコ葉	22
キンミズヒキ 葉	44
アブラチャン 実	48
ノイバラ 花	67
オレガノ 葉	101
ウツボグサ 葉	103
トラノヲ 花葉	74
クリ 葉	96
マツヨイ草 花	107
ワレモコウ 葉	101
サルトリイバラ花	114
レモンバーム 実	109

かかる植物粉末を入浴剤として使用する場合は、植物粉末の添加量を50g以下とすることが好ましく、ザクロ実、レモンバーム葉、ゲンノショウコ葉、キンミズヒキ葉、又はアブラチャン葉が好ましい。特に、ザクロ実又はレモンバーム葉が香り等の点からも好適である。

#### 【0016】実施例3

実施例1において得られた植物粉末100gを水1リッ

トルにて15分間の攪拌抽出(200rpm、25℃)した後、遠心分離機を使用して遠心分離(6000rpm、30分間)して上澄液を得た。この上澄液を温水200リットルに添加してコラゲナーゼ阻害率を測定し、コラゲナーゼ阻害率が10%以上とするに必要な上澄液量を測定した。その結果を下記の表3に示す。

表3

サンプル名	必要な上澄液量 (cc)
ザクロ 実	200
レモンバーム 葉	150
ゲンノショウコ葉	250
キンミズヒキ 葉	500
アブラチャン 実	500
ノイバラ 花	700
オレガノ 葉	1000
ウツボグサ 葉	1000
トラノヲ 花葉	750
クリ 葉	1000
マツヨイ草 花	1000
ワレモコウ 葉	1000
サルトリイバラ花	1000
レモンバーム 実	1000

#### 【0017】実施例4

実施例1において得られたレモンバーム葉の粉末100gを水1リットルにて15分間の攪拌抽出(200rpm、25℃)した後、遠心分離機を使用して遠心分離(6000rpm、30分間)して上澄液を得た。次いで、この上澄液を凍結乾燥して10gの固形物とした。得られた固形物の1.5gを温水200リットルに溶解すると、温水のコラゲナーゼ阻害率を10%とすることができた。

#### 【0018】

【発明の効果】本発明のコラゲナーゼ阻害剤中のコラゲナーゼ阻害成分は、天然物であるため、皮膚に直接付けることができる。このため、本発明のコラゲナーゼ阻害剤を入浴剤等として使用することによって、皮膚真皮や目的部位にて、コラゲナーゼの活性を阻害し、皮膚の弛みやシミの進行、或いはリュウマチ症状の進行の遅延を期待できる。

## 【手続補正書】

【提出日】平成7年3月29日

## 【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0002

【補正方法】変更

【補正内容】

【0002】

【従来の技術】人間の皮膚や関節を取り巻く筋内は、コラーゲンなるタンパク質とエラスチンなるタンパク質との網目構造によって、その形状等が保持されている。かかるコラーゲンは、紫外線の照射や自己消化によって分解されるものであって、リュウマチ性関節炎は、免疫代謝異常による自己消化によって、関節のコラーゲン繊維が分解されるために起こるとされている。ところで、コラーゲンの消失は、体内に存在するコラーゲンの分解酵素であるコラゲナーゼによってもなされる。従って、選択的に皮膚真皮や目的部位にて、コラゲナーゼの活性を阻害することができれば、リュウマチ症状の進行の遅延を期待できる。かかる観点からコラゲナーゼの阻害剤について、化粧品素材や医薬品材料として研究されている。

## 【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0003

【補正方法】変更

【補正内容】

## 【0003】

【発明が解決しようとする課題】この様に、コラゲナーゼ阻害剤が配合された化粧品等によれば、コラーゲンの不足によって発生する種々の問題の解決、例えばリュウマチ症状の進行の遅延を可能とすることが期待し得る。しかしながら、現在研究されている殆どのコラゲナーゼ阻害剤が合成品であるため、敏感な皮膚に直接付着する化粧品等に合成品のコラゲナーゼ阻害剤を配合することには問題がある。そこで、本発明の目的は、敏感な皮膚に直接付着し得る天然物から得られ、コラゲナーゼ阻害成分を含有するコラゲナーゼ阻害剤を提供することにある。

## 【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0018

【補正方法】変更

【補正内容】

【0018】

【発明の効果】本発明のコラゲナーゼ阻害剤中のコラゲナーゼ阻害成分は、天然物であるため、皮膚に直接付けることができる。このため、本発明のコラゲナーゼ阻害剤を入浴剤等として使用することによって、皮膚真皮や目的部位にて、コラゲナーゼの活性を阻害し、コラーゲンの不足に因り発生する種々の問題の解決、例えばリュウマチ症状の進行の遅延を期待できる。

フロントページの続き

(51)Int. Cl.<sup>6</sup>

A 61 K 7/50

識別記号

庁内整理番号

F I

技術表示箇所